Die Absorption

der löslichen Fermente durch das Fibrin.

Von

Dr. Stanislaw Szumowski

Die Absorption

der löslichen Fermente durch das Fibrin.

Inaugural-Dissertation,

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Freiburg in der Schweiz

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Stanislaw Szumowski

aus Lublin

(Russisch-Polen)

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Freiburg (Schweiz)
Buchdruckerei Gebrüder Fragnière.

1898

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545307_0043

Pamięci Rodziców

Die vorliegende Arbeit wurde im physiologischen Institut der Universität Freiburg in der Schweiz im Wintersemester 1896—97 und im Sommersemester 1897 auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Arthus ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, diesem meinen hochverehrten Lehrer meinen herzlichsten Dank für seine liebenswürdigen Anregungen und das grosse Interesse, welches er der Arbeit entgegenbrachte, auszusprechen.

Die Absorption der löslichen Fermente

durch das Fibrin.

EINLEITUNG.

In den physiologisch-chemischen Arbeiten der letzten 25 Jahre findet man oft die Thatsache verzeichnet, dass das Fibrin die Fähigkeit besitzt, einige der löslichen Fermente aus ihren Lösungen abzuscheiden und sie energisch zu absorbieren.

Dieses Vermögen des Fibrins ist in der Praxis schon vielfach in nutzbringender Weise angewandt worden, und es ist zu hoffen, dass die Anwendung auch im weiteren bedeutende Dienste leisten wird. Von dem Gedanken geleitet, dass diese Absorptionsfähigkeit des Fibrins infolge ihrer praktischen Wichtigkeit nach jeder Richtung hin gründlich erforscht werden müsse, habe ich durch die vorliegende Arbeit bezweckt, durch neue Versuche die einzelnen schon bekannten Thatsachen zusammenzufassen und die Forschungen über das Verhalten des Fibrins auf andere noch nicht geprüfte lösliche Fermente auszudehnen.

Geschichtlicher Teil.

Es war v. Witich [1]) der erste, der im Jahre 1872 auf die Fähigkeit des Fibrins, lösliche Fermente zu absorbieren, aufmerksam machte. Bei seinen Versuchen über die Diffusibilität des Pepsins bemerkte er nämlich, dass, wenn man Glycerin-Pepsin durch den Dialysator Grahams in destilliertes Wasser, in welches ein Paar Flocken Fibrin geworfen waren, diffundieren und den Versuch einige Zeit andauern liess und dann die Fibrinflocken in eine verdünnte Säure brachte — dieselben nunmehr schnell und vollständig verdaut wurden. Daraus schloss v. Wittich, dass das Fibrin das Pepsin sehr energisch absorbiert. Diese Folgerung bestätigte er auf Grund anderer Versuche: In einer Pepsin enthalten den Lösung wurde ausgewaschenes Fibrin 24 Stunden lang mazeriert, dann wurde das Fibrin aus der Lösung herausgenommen und durch eine frische Fibrinflocke ersetzt. Dieses Verfahren setzte v. Wittich 8 Tage lang fort. Als Ergebnis stellte er fest, dass die Flüssigkeit ihre peptische Wirksamkeit vollständig verloren hatte, dagegen das gesammelte Fibrin, mit 0,2%iger Säure übergossen, in kurzer Zeit vollständig verdaut wurde. — Weiter bemerkte v. Wittich, dass es am vorteilhaftesten ist, zu den Versuchen nur schwache Glycerin-Pepsinlösungen zu benutzen, unter welchen Be-

[1]) Pfl. Arch. vol. V, p. 443.

dingungen das Fibrin schon im Verlauf von 2 Tagen alles Pepsin der Lösung zu entziehen vermag. — Ein weiterer Versuch des Forschers zeigt, dass das Pepsin selbst aus einer sauren Lösung durch das Fibrin absorbiert wird. Bei diesem Versuche bemerkte v. Wittich dass wenn sich aus dem Fibrin keine Verdauungsprodukte mehr gebildet hatten, die vom Fibrin abfiltrierte Flüssigkeit, selbst wenn sie mit schwacher Säurelösung auf das doppelte Volumen verdünnt wurde, wider Erwarten ihre verdauende Wirkung auf das neu zugefügte Fibrin gänzlich oder teilweise verloren hatte. — Im weiteren Verlaufe seiner Mitteilungen erwägt v. Wittich, welcher Art das Verhalten des vom Fibrin zurückgehaltenen Pepsins sein könne. Er weist die Annahme, dass beide Körper in bestimmten Mengenverhältnissen in eine Verbindung übergehen, welche in verdünnter Säure löslich ist, zurück, da, wie er sich experimentell überzeugt hat, nicht nur das pepsinhaltige Fibrin bei Zusatz der Säure verdaut wird, sondern auch noch weiterhin frisch zugefügtes. Wenn man dagegen den Versuch in der Weise anstellt, dass man zu dem in Salzsäure gequollenen und dann in ein grobes Filtrum gebrachten Fibrin eine kleine Menge von Glycerin-Pepsin zusetzt, fliesst nur eine geringe Menge des Fibrins verdaut durch das Filtrum hindurch, während ein grosser Teil auf dem Filtrum unverändert zurückbleibt; dieser Ueberrest wird in der Säurelösung nicht verdaut, hat also kein Pepsin absorbiert, während das Filtrat eine energische peptische Wirkung zeigt. — Daraus schliesst v. Wittich, dass das Pepsin im Moment seiner Einwirkung zugleich mit den Verdauungs-

produckten abfiltriert ist. Während seines Durchganges durch das Fibrin vermag das Pepsin letzteres nicht zu verdauen; dafür ist der dauernde Contact des Fibrins mit dem Pepsin eine notwendige Bedingung. v. Wittichs Meinung ist, dass das Pepsin mit der Säure in eine chemische Verbindung, welche die eigentliche Wirksame Substanz ist, eingeht; diese Verbindung ist aber eine äusserst lockere und wird schon in Gegenwart überschüssigen Fibrins wieder getrennt.

Olaf Hammarsten [1]) bestätigte die Angabe v. Wittichs bezüglich der Absorption des Pepsins durch das Fibrin, während er der Behauptung desselben in Betreff der Diffusibilität des Pepsins entgegentritt.

Auch Grützner [2]) bekannte sich zu obiger Annahme.

In Würtz's Notiz [3]) finden wir neben der Bestätigung der Absorption des Pepsins durch das Fibrin, auch die Angabe, dass das Fibrin, welches einige Zeit in einer Lösung von Papain eingetaucht war, dieses Ferment zurückhält.

Schon nach kurzer Zeit wurde die Eigenschaft des Fibrins, die löslichen Fermente aus den Lösungen zu absorbieren, auch in der Praxis verwertet u. zw. bei Untersuchungen des Urins auf Fermente. Hierbei bedienten sich viele Forscher (Grützner, Sahli, Gehrig, Leo, Neu-

---

[1]) Maly's Jahresb. 1873, p. 169.

[2]) Bresl. ärztl. Zeitschr. 1882, N° 17.

[3]) Note sur la mode d'action des ferments solubles. Angabe in Maly's Jahresb. 11, p. 264, 1881.

meister, Hoffmann, Rosenberg, Bendersky) des Fibrins, um kleine Mengen von Fermenten im Urin nachzuweisen.

Behufs Bestimmung des im Urin vorhandenen Pepsins tauchte Grützner in den zu untersuchenden Harn eine Fibrinflocke einige Zeit unter und brachte sie dann, nachdem er sie mit destilliertem Wasser abgewaschen hatte, in eine Salzsäurelösung. In dieser verdaute sich das so behandelte Fibrin schnell und vollständig selbst, was seine Beladung mit dem Pepsinferment genügend bewies. Ein ähnliches Verhalten bestätigte Grützner später für diastatisches Ferment, indem er das einige Zeit in dem Urin untergetauchte Fibrin nach dem Abwaschen in Stärkekleister legte. Er constatierte dann, dass ein Teil der Stärke in wenigen Stunden in Zucker umgewandelt war.

Dieser von Grützner eingeschlagene Weg wurde später allgemein zum Zwecke des Nachweises der Fermente im Urin verfolgt.

Sahli[1]) suchte die Methode auch zu einer quantitativen Bestimmung des Pepsingehaltes zu benutzen. Er fand, dass sich das in pepsinhaltige Flüssigkeiten eingelegte Fibrin proportional dem Pepsingehalt der Lösung mit dem Ferment beladet. Bei seinen Versuchen bediente sich Sahli zuerst der Grützner'schen colorimetrischen Methode, indem er dem aus dem Harn herausgenommenen und ausgewaschenen Faserstoff mit Carmin schwach gefärbtes Fibrin zusetzte; bald verwarf er aber diese Methode, da sich herausstellte, dass das Carminfibrin

[1]) Pfl. Arch. vol. 36, p. 214.

längere Zeit zu einer Lösung gebrauchte, als der ungefärbte mit Ferment gesättigte Faserstoff, wodurch die Versuche weniger exact wurden; dagegen wurden die Unterschiede und Fortschritte der Verdauung ohne Zusatz von Carminfibrin sehr deutlich wahrgenommen. — Sahli beabsichtigte sich der Methode der Extraction von Fermenten mittelst Fibrin auch zur Bestimmung des Tripsinfermentes zu bedienen; bei den angestellten Versuchen bemerkte er aber, dass das Fibrin nicht die Fähigkeit besitzt, das Tripsin in gleicher Weise, wie das Pepsin, in sich anzusammeln.

Gehrig[1]), welcher die Untersuchungen über den Fermentgehalt des Urins wiederaufnahm, bediente sich ebenfalls der Methode des Ausziehens der Fermente durch das Fibrin, und er verband mit derselben die von Sahli verworfene Grützner'sche colorimetrische Methode in der Weise, dass er das mit Carmin gefärbte Fibrin gleich zum Ausziehen der Fermente aus dem Harn benutzte. Durch folgenden Versuch zeigte Gehrig die Richtigkeit der Annahme Sahli's, dass das Fibrin sich proportional dem Pepsingehalte der Lösung mit dem Ferment beladet: Zu 5 Reagensgläschen, welche je 5ccm Wasser enthielten, wurden 2, 4, 6, 8 und 10 Tropfen Glycerin-Pepsinlösung zugesetzt und in jedes Gläschen gleiche Mengen des mit Carmin gefärbten Fibrins gebracht; nach 2 Stunden wurde die Pepsinlösung aus den Gläschen abgegossen und durch je 5ccm 1%iger Salzsäure ersetzt; die Gläschen brachte man in ein Wasserbad. Nach be-

[1]) Pfl. Arch. vol. 38, p. 35.

stimmter Zeit zeigten die Lösungen eine hübsche, immer intensiver werdende Farbenscala, entsprechend den gebrauchten Mengen der Pepsinlösung. Durch Vergleichung der Farben der bei den Harnversuchen erhaltenen Verdauungsflüssigkeiten mit der Scala, konnte Gehrig einen Schluss auf die Menge des im Harn enthaltenen Fermentes ziehen.

Bei der Bestimmung des Trypsingehaltes wollte Sahli das Fibrin nicht benutzen, da seine Versuche, wie oben erwähnt, ergaben, dass das Fibrin nicht in gleichem Masse wie das Pepsin die Fähigkeit besitzt, dieses Ferment zu absorbieren. Da aber der von Sahli eingeschlagene Weg zur Trypsinbestimmung gewisse Inconvenienzen enthielt, führte Gehrig noch einmal die Versuche über die Absorptionsfähigkeit des Trypsins durch Fibrin durch, und fand, dass, obwohl letzteres das Eiweissferment des Pankreas weniger rasch, als dasjenige des Magens aufnimmt, die Absorption doch genügend deutlich geschieht, um dieses Vermögen des Fibrins auch zur Bestimmung des Gehaltes der Flüssigkeiten an Trypsin anzuwenden. Auch hier wollte Gehrig die colorimetrische Methode in Anwendung bringen; das Carmin als Farbstoff war aber hier unbrauchbar, weil es durch alkalische Lösung verändert wurde. Einen passenden Farbstoff fand Gehrig im Magdalarot und er benutzte durch letzteres gefärbtes Fibrin zu seinen Trypsinbestimmungen. Die Versuche verliefen in ganz ähnlicher Weise, wie bei der Pepsinbestimmung. — Auch bei der Bestimmung von diastatischem Ferment führte Gehrig die v. Wittich'sche Methode ein, in dem

er vorerst das Ferment durch Fibrin aus dem Harn absonderte und seine Wirkung auf Stärkekleister übertrug.

In seiner Abhandlung: «Zur Frage der Trypsinausscheidung durch den Harn nebst einer Methode zum Nachweis kleiner Trypsinmengen» [1]) zieht Leo die Ergebnisse der Versuche Gehrig's in Zweifel, in dem er zu beweisen sucht, dass bei der Ausführung der letzteren nicht genügend für das Fernhalten der Fäulnisorganismen gesorgt wurde, und dass die angebliche Wirkung des Trypsins auf das Fibrin durch einen Fäulnisvorgang zu erklären sei, in dem letztere ähnlich, wie das Trypsin auf den Faserstoff einwirke. Die umfangreiche Auseinandersetzung Leo's bezüglich der Unzulänglichkeit der Gehrig'schen Versuche kann als nicht zum Thema gehörend an dieser Stelle übergangen werden — wichtig ist dagegen, dass Leo die Absorption des Trypsins durch Fibrin, bei seinen eigenen Versuchen bestätigt fand. Um das Fibrin gegen die etwa anhaftenden Fäulnisorganismen zu schützen, behandelte Leo das zu den Versuchen bestimmte Fibrin 8 Tage lang mit 2 %iger Carbolsäure, wonach er letztere mit destilliertem Wasser entfernte. Als er sich aber bald überzeugte, dass auf dem Faserstoff sich doch noch reichliche Mengen von Coccen befanden, mithin also die Carbolsäure in der angewandten Verdünnung nicht im Stande war das Fibrin zu sterilisieren, griff er zu einem anderen Mittel; er benutzte zu

[1]) Pfl. Arch. vol. 39, p. 246.

den Versuchen ein Fibrin, welches zuvor im Wasser längere Zeit auf 100° erhitzt war. Leo versuchte nun, wie sich derartiger Faserstoff in Betreff der Absorptionsfähigkeit des Trypsins aus seinen Lösungen verhielt. Der Versuch gab positive Resultate, indem das gekochte Fibrin, welches einige Zeit in Trypsinlösung gelegt hatte, in 1%ige Sodalösung gebracht, sich schon bei gewöhnlicher Temperatur sehr schnell verdaute. Um sich zu überzeugen, ob der Faserstoff auch aus sehr verdünnten Lösungen das Trypsinferment auszuziehen vermöge, führte Leo die Versuche in folgender Weise aus: In eine Anzahl sterilisierter Reagensgläser legte er ungefähr gleiche Quantitäten feingeschnittenes Fibrin, fügte jedem Gläschen einige ccm Wasser zu, und hielt diese mehrere Minuten auf Siedetemperatur. Nach dem Abkühlen goss er in jedes Gläschen 15 ccm schwache Trypsinlösung. Nach 18–22 stündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur, wurden die Trypsinlösungen abgegossen, durch 4 ccm sterilisierter Sodalösung ersetzt und die Gläschen in den Brutofen gestellt. Zu gleicher Zeit wurden je 15 ccm Trypsinlösungen von verschiedener Intensität unter Zusatz von 0,15 g Soda mit den gleichen Mengen gekochten Fibrins auf 38–40° erhitzt. Nach Verlauf von 5 Stunden wurden die Sodalösungen mit gleichen Mengen verdünnter alkalischer Kupfersulfatlösung untersucht. Der ganze Versuch wurde mit allen möglichen Vorsichtsmassregeln ausgeführt, um ein Eintreten von Microorganismen zu verhindern. Eingetretene rote bezw. violette Färbung bewies die Lösung des Fibrins. Um sicher zu sein,

dass mit den Trypsinlösungen keine vereinzelte Microorganismen eingeführt waren, setzte Leo eine Serie der Trypsinlösungen einer Temperatur von 60° aus, und zu einer zweiten Serie fügte er je 2 Tropfen einer 25%igen Thymollösung; eine dritte wurde ohne besondere Massregeln gelassen.

Seit dieser Zeit haben sich alle Forscher, die sich mit Fermentbestimmung beschäftigten, der Methode des Ausziehens des Fermentes durch das Fibrin bedient.

Stadelmann[1]) empfiehlt, das Fibrin zu den Versuchen stets in gekochtem Zustande zu verwenden, da er der Meinung ist, dass der ungekochte Faserstoff, in Folge seines Absorptionsvermögens schon mehr oder weniger mit gewissen Fermenten, wie z. B. mit Pepsin, welches im Blute nachgewiesen ist, beladen sei; für Trypsinbestimmung sei aber das Kochen des Fibrins besonders nothwendig, schon aus dem Grunde, um das Eintreten der Fäulnisorganismen zu verhindern. Dagegen stimmt Stadelmann der Methode Leo's, Trypsinlösungen einer Temperatur von 60° auszusetzen, nicht bei, da er meint, dass dadurch mit den Bacterien auch das Trypsinferment leicht zerstört werden könne.

Aus demselben Jahre stammt auch eine Arbeit von Neumeister[2]), welcher gleichfalls Pepsin und Trypsin im Harne nach Sahli's Methode bestimmte.

Die von Hoffmann[3]) im Jahre 1887 angestellten

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. vol. 24, p. 233 u. 258.
[2]) Zeitschr. f. Biol. vol, 24, p. 289 u. 291.
[3]) Pfl. Arch. vol. 41, p. 148

Versuche bestätigen die Angaben der früher genannten Autoren, was die Absorptionsfähigkeit des Fibrins bezüglich des Pepsins, Trypsins und diastatischen Ferments anbelangt.

Aus einer neuen Arbeit Leo's, welche im Jahre 1888 erschien [1]) ersehen wir, dass dieser Forscher sich wieder der Methode des Ausziehens der Fermente durch das Fibrin zum Nachweis von Pepsin und diastatischem Ferment in dem Urin bedient.

Im Jahre 1890 benutzte wieder Rosenberg [2]) das Fibrin, um das diastatische Ferment dem Harne zu entziehen, und aus seinen Versuchen ergiebt sich, dass dieses Ferment gleich dem Pepsin und Trypsin vom Faserstoff absorbiert wird. Einer seiner Versuche lehrt, dass gleiche Mengen von Fibrin aus verschieden concentrierten Kochsalzlösungen verschiedene Mengen von Ferment aufnehmen; am besten beladet sich das Fibrin mit dem Ferment in einer 1%igen Kochsalzlösung; dagegen vermag das Fibrin aus Sodalösung das Ferment nicht auszusiehen; Glaubersalz scheint die Absorption nicht zu beeinflussen.

Bendersky [3]) hat das Fibrin als Ausziehungsmittel für Pepsin und Ptyalin angewendet.

Endlich hat Arthus [4]), in seiner Abhandlung über Glycolyse und das glycolytische Ferment, durch

---

[1]) Maly's Jahresb. 1888, p. 110.

[2]) Inauguraldissertation. Tübingen 1890.

[3]) Maly's Jahresb. 1890, p. 190.

[4]) Arch. de Phys. 1891, N° 3, p. 425.

einen seiner Versuche gezeigt, dass das Fibrin das Vermögen besitzt, auch das glycolytisches Ferment zu absorbieren.

Anschliessend an die oben angeführten Untersuchungen von v. Wittich, Grützner, Sahli, Gehrig und anderer bezüglich der Absorption von Pepsin und Trypsin durch das Fibrin, habe ich Versuche darüber angestellt, ob auch andere Fermente von Fibrin absorbiert werden. Ich habe die Fermente: Labferment, Diastase, Invertin, Emulsin, Maltase und Ptyalin einer eingehenden Untersuchung nach dieser Richtung hin unterzogen.

In dem experimentellen Teile meiner Arbeit, werde ich die von mir angestellten Versuche näher beschreiben. Ich habe jedoch aus ihrer grossen Zahl jedesmal nur die typischen ausgewählt, um nicht die Arbeit mit weniger wichtigem oder nicht verwertbarem Material zu belasten.

Die Aufgaben, welche ich durch diese Untersuchungen zu lösen beabsichtigte, lassen sich in folgenden Fragen zusammenfassen:

1. Werden die oben genannten löslichen Fermente durch Fibrin in seinen verschiedenen Formen absorbiert, d. h. durch rohes und gekochtes Fibrin, durch ebensolches, welches in Alkohol aufbewahrt wurde, oder welches in Glycerin gelegen hatte, ferner durch das auf 100° ausgetrocknete Fibrin und durch das mittelst einer Säure gequollene Fibrin?

2. Vermag das Fibrin die löslichen Fermente aus Lösungen von verschiedener Natur abzusondern?

3. Besizt auch das längere Zeit in Alkohol aufbewahrte Fibrin die Fähigkeit das Ferment zu absorbieren?

Behält das mit Fermenten beladene Fibrin dieselben in unverändertem Zustande bei, wenn es in Alkohol aufbewahrt wurde?

4. Verliert das mit Fermenten beladene Fibrin seine Fermentwirkung gänzlich oder teilweise, nachdem es auf Substanzen mit seinen Fermenten gewirkt hat?

5. Giebt das mit Fermenten beladene Fibrin dieselben an verschiedene Flüssigkeiten, mit welchen es in Contact kommt ab, und in welchem Masse?

6. Vermag eine und dieselbe Fibrinflocke mehrere Fermente auf einmal festzuhalten?

Die zur Beantwortung dieser Fragen angestellten Versuche werde ich nach obiger Reihenfolge beschreiben.

Experimenteller Teil.

1. Absorbiert das Fibrin in seinen verschiedenen Formen die löslichen Fermente?

Zur Beantwortung dieser Frage stellte ich verschiedene Fermentlösungen dar und operierte damit wie folgt.

a. Labferment.

Zu den Labfermentlösungen wurden zuerst bereits 2 Jahre alte Hensen'sche Labfermentpastillen benutzt, später jedoch frisch bezogenes Labpulver von Grübler. Diesletztere wurde einfach in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung filtriert. Das zu diesem, wie auch zu

allen anderen Versuchen verwandelte Fibrin wurde jedesmal frisch vom Schlachthof bezogen, mehrmals sorgfältig unter fliessendem Wasser gewaschen und ausgepresst, bis es fast ganz farblos erschien. Man führte die Versuche in der Weise aus, dass man in Gläschen mit gleichen Mengen von Fermentlösung ungefähr gleiche Quantitäten von verschiedenen Fibrinarten legte; zur Controlle wurde eine andere Fibrinserie in reines destilliertes Wasser gelegt, ferner ein gewisses Quantum von Fermentlösung ohne Fibrinzusatz aufbewahrt. Nach Verlauf von ungefähr 24 Stunden wurden sämtliche Fermentlösungen auf ihre Stärke geprüft, indem zu gleichen Quantitäten Milch gleiche Mengen von Fermentlösungen zugesetzt und die Gläschen dann in ein Wasserbad von der Temperatur 38–40° gebracht wurden. Ebenso verfuhr man mit den aus den Fermentlösungen herausgenommenen Fibrinarten, welche man vor dem Einlegen in die Milch sorgfältig gewaschen hatte, um sie von etwa mechanisch anhaftendem Ferment zu befreien.

Versuch 1.

Man stellte eine Labfermentlösung her, indem man 4g Grüblers Labpulver in 200ccm destilliertem Wasser löste. Die Serie bestand aus 7 Gläschen, welche enthielten:

1) 40ccm Labfermentlösung.
2) 40 » » + rohes Fibrin
3) 40 » » + gekochtes Fibrin
4) 40 » » + rohes Fibrin } welches 24 Stunden lang in Alkohol aufbewahrt wurde.
5) 40 » » + gekochtes Fibrin }
6) 40ccm dest. Wasser + rohes Fibrin
7) 40 » » + gekochtes Fibrin

Nach Verlauf von 24 Stunden wurde zuerst die Coagulationskraft der reinen Labfermentlösung geprüft, indem man zu je 20ccm Milch 30, 20, 10 und 5 Tropfen der Lösung zusetzte. Die Milch coagulierte in 2, 2, 3 und 5 Minuten. Die Lösung hatte sich also als sehr kräftig erwiesen und man verwendete zu den folgenden Versuchen jedesmal nur 5 Tropfen.

Zu je 20ccm Milch setzte man 5 Tropfen von jeder der 7 Flüssigkeiten. Die Coagulation der Milch erfolgte bei :

N° 1. in 5 Minuten.
N° 2. in $9^1/_2$ »
N° 3. in $8^1/_2$ »
N° 4. in $6^1/_2$ »
N° 5. in 6 »
N° 6. } trat keine Coagulation ein.
N° 7. }

Nun gelangten die Fibrinarten zur Prüfung, welche die Coagulation der Milch in folgenden Zeiträumen bewirkten :

N° 2. in 16 Minuten.
N° 3. in 25 »
N° 4. in 18 »
N° 5. in 32 »
N° 6. } trat keine Coagulation ein.
N° 7. }

Versuch 2.

Die zum Versuch 1 verwendete Fermentlösung konnte vielleicht zu kräftig gewesen sein und in Folge dessen hätten die Differenzen in der Zeit der Coagulation der Milch nicht so prägnant sein können ; deshalb wählte man zu diesem Versuche Labfermentlösungen von verschiedener Concentration.

Es wurde deshalb bereitet :

Lösung *A*: 4 g Grübler's Labpulver in 400ccm dest. Wasser gelöst.

Lösung *B*: 1 vol. Lösung *A* + 4 vol. dest. Wasser.

Lösung *C*: 1 vol. Lösung *B* + 4 vol. dest. Wasser.

So entsanden 3 Serien von Präparaten, jede bestehend aus 5 Gläschen.

N° 1.	40 ccm.	Fermentlösung		
N° 2.	40 »	»	+ rohes Fibrin	
N° 3.	40 »	»	+ gekochtes Fibrin	
N° 4.	40 »	»	+ rohes Fibrin	welches 4 Tagen hindurch in Alkohol aufbewahrt worden war.
N° 5.	40 »	»	+ gekochtes Fibrin	welches 4 Tagen hindurch in Alkohol aufbewahrt worden war.

Nach 24 Stunden wurde die Prüfung der Fermentlösungen unternommen.

Bei der Lösung *B* erfolgte die Coagulation der Milch bei Anwendung von:

20	Tropfen	in 3	Minuten.
10	»	in 4 1/2	»
5	»	in 7 1/2	»

Von jeder Lösung der Serie *B* setzte man je 5 Tropfen zu je 20 ccm Milch. Dieselbe coagulierte bei:

N° 1.	in 7 1/2	Minuten.
N° 2.	in 15 1/2	»
N° 3.	in 13	»
N° 4.	in 15	»
N° 5.	in 8	»

Von den Lösungen der Serie *C* setzte man jedesmal 10ccm und von denjenigen der Serie *A* je 5 Tropfen zu je 20ccm Milch. Die Coagulation erfolgte bei :

	Serie A	Serie B
N° 1.	in 2 Minuten,	in 3 Minuten.
N° 2.	in 9 »	in 16 ½ »
N° 3.	in 8 »	in 10 »
N° 4.	in 4 ½ »	in 14 »
N° 5.	in 3 ½ »	in 10 ½ »

Die Fibrine der 3 Serien, von denen *A* und *B* 24 Stunden, diejenigen der Serie *C* 48 Stunden in den Fermentlösungen verblieben waren, bewirkten die Coagulation der Milch in:

	Serie A	Serie B	Serie C
N° 2.	in 8 Minuten,	in 8 Minuten,	in 9 Minuten.
N° 3.	in 9 »	in 18 ½ »	in 23 »
N° 4.	in 9 »	in 9 »	in 17 »
N° 5.	In 12 ½ »	in 17 »	in 20 »

Die Lösungen der Serie *C* wurden noch 48 Stunden noch einmal untersucht (10ccm Lösung zu 20ccm Milch) und ergaben folgende Resultate. Die Milch coagulierte bei:

N° 1. in 3 ½ Minuten.
N° 2. in 65 ½ »
N° 3. in 12 »
N° 4. in 44 ½ »
N° 5. in 16 ½ »

Zum Vergleich sei hier die Zahl der Minuten angegeben, innerhalb welcher die Fermentlösungen der Serie *C* Milch coagulierten, nachdem das Fibrin 24 und 48 Stunden in letzteren gelegen hatte.

Es coagulierte:

	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden
N° 1.	in 3 Minuten,	in 3 ½ Minuten.
N° 2.	in 16 ½ »	in 65 ½ »
N° 3.	in 10 »	in 12 »
N° 4.	in 14 »	in 44 ½ »
N° 5.	in 10 ½ »	in 16 ½ »

Versuch 3.

Zur Controlle wurde noch ein dem Versuch 2 ähnlicher Versuch ausgeführt, in dem man 3 ganz gleiche Serien mit Fermentlösungen wie die bei *A*, *B* und *C* des Versuches 2 darstellte und 5 Tropfen der Lösungen der Serie *A*, 10 Tropfen derjenigen der Serie *B* und 10ccm der Lösungen der Serie *C* zu je 20ccm Milch zusetzte. Diese Mengen bewirkten das Gerinnen der Milch bei:

	Serie A	Serie B	Serie C
N° 1.	in 4 ½ Minuten,	in 8 Minuten,	in 4 ½ Minuten.
N° 2.	in 9 »	in 27 ½ »	in 9 ½ »
N° 3.	in 4 »	in 23 ½ »	in 9 »
N° 4.	in 6 »	in 20 »	in 5 »
N° 5.	in 5 »	in 15 »	in 4 ½ »

Die entsprechenden Fibrine coagulierten die Milch bei:

	Serie A	Serie B	Serie C
N° 2.	in 6 Minuten,	in 5 Minuten,	in 12 Minuten.
N° 3.	in 7 »	in 9 »	in 30 »
N° 4.	in 11 »	in 7 »	in 15 »
N° 5.	in 12 »	in 23 »	in 36 »

Zur Ergänzung dieser Untersuchungen wurde ein weiterer Versuch angestellt, um das Verhalten des ausgetrockneten und des mit säuren aufgequollenen Fibrins in Bezug auf die Absorption aufzuklären.

Versuch 4.

Zu diesem Zweck trocknete man eine frische, vollständig ausgewaschene Fibrinflocke $^1/_2$ Stunde lang in einem Trockenschrank bei 100°, brachte sie in eine Labfermentlösung und liess sie dort 24 Stunden einwirken. Nach dem Abwaschen brachte man die so behandelte Flocke in 20ccm Milch. Die Gerinnung der letzteren erfolgte ungefähr ebenso schnell, als ob frisches, rohes, mit Ferment beladenes Fibrin der Milch zugesetzt worden wäre.

Ein anderes Quantum Fibrin wurde in verdünnte Essigsäure eingetaucht und verblieb in derselben während 3 Stunden: dann wurde es herausgenommen, solange gewaschen, bis das abfliessende Wasser nicht mehr sauer reagierte, und in eine Labfermentlösung gethan. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde es aus der Lösung herausgenommen, abgewaschen und in Milch eingetragen. Die Coagulation derselben wurde ebenso schnell bewirkt, wie durch das mit Ferment beladene, rohe nicht mit Essigsäure behandelte Fibrin.

In einem weiteren Versuch varierte man die Quantitäten des Fibrins in verschiedener Weise.

Versuch 5.

In 4 Gläschen mit gleichen Mengen Labfermentlösung brachte man 1, 2, 4 und 8g Fibrin. Nach 24 stündigem Stehen, wurden die Fibrinmengen aus den Lösungen herausgenommen, abgewaschen und in gleiche Mengen Milch eingetragen.

Die Coagulation wurde bewirkt durch:

1 g in 19 Minuten.
2 g in 13 »
4 g in 7 »
8 g in 4 »

Durch die beschriebenen Versuche war nun die Thatsache bestätigt, dass das Fibrin das Labferment aus reinen Lösungen zu absorbieren vermag; denn einerseits hatten die Fermentlösungen, in welchen das Fibrin gelegen hatte, an ihrer Stärke verloren und andererseits war das Fibrin, welches in Fermentlösungen gelegt wurde, nachher im Stande, Milch zu coagulieren. Die durch die Versuche erhaltenen Resultate stimmen im Grossem und Ganzen miteinander überein. Ferner ist aus den Versuchen die Thatsache zu constatieren, dass gewisse Fibrinarten sich energischer in Bezug auf ihre Absorptionsfähigkeit erweisen als andere: so hat in allen Versuchen das frische, rohe Fibrin das Ferment am meisten absorbiert; am nächsten stehen ihm das ausgetrocknete, das in Säure gequollene und das in Glycerin aufbewahrte rohe Fibrin; dann folgt dasjenige rohe Fibrin, welches im Alkohol aufbewahrt wurde. Das gekochte Fibrin zeigt sich bedeutend schwächer absorbierend. Am wenigsten absorbiert gekochtes, unter Alkohol aufbewahrtes Fibrin. Die Tierart, von welcher das Fibrin genommen war, scheint ohne jeden Einfluss zu sein, dagegen übt längeres oder kürzeres Verbleiben des Fibrins in den Fermentlösungen, wie man sich aus dem Versuch 2 überzeugen kann, eine bedeutende Wirkung auf das Beladen des Faserstoffs mit dem Ferment aus, wie besonders bei rohem

Fibrin deutlich zu sehen ist. Selbstverständlich ist auch die Menge des gebrauchten Fibrins auf die Dauer der Milchgerinnung von Einfluss (Versuch 5).

b. Diastase aus Malz.

Als weiteres Ferment wurde die pulverisierte Diastase aus Malz (bezogen von Grübler) verwendet, welche gewöhnlich in 1%iger Fluornatriumlösung, oder in Chloroformwasser aufbewahrt wird, um alle Fäulniserreger fern zu halten. In diese, erst filtrierten Lösungen brachte man die Fibrinflocken, welche genau wie zu den Versuchen mit Labferment gewonnen waren. Um sich von der Wirkung des Fermentes zu überzeugen, bediente man sich folgender Methode. Man bereitete eine Stärkelösung indem man reine, zuckerfreie Stärke mit 1%iger Fluornatriumlösung eine halbe Stunde lang kocht und filtriert. Zu der so erhaltenen Lösung wurden die Fermentlösungen, oder das mit Ferment beladene Fibrin zugesetzt und in einen Thermostaten von 40° gestellt. Nach Verlauf einer bestimmten Zeit überzeugte man sich von der fortschreitender Fermentwirkung durch die Jodprobe. Aus dem vollständigen Fehlen, bezw. der mehr oder weniger intensiven Färbung, konnte man leicht Schlüsse auf den Grad der Fermentwirkung ziehen.

Versuch 6.

In 6 Gläschen goss man je 30ccm der Diastaselösung in Chloroformwasser; den Gläschen wurde zugesetzt:

1) rohes Fibrin } frisch.
2) gekochtes » }
3) rohes Fibrin, welches in Glycerin aufbewahrt war.
4) rohes Fibrin } welches in Alkohol aufbewahrt war.
5) gekochtes » }
6) in einem sechsten Gläschen wurde die Lösung ohne Zusatz von Fibrin gelassen.

Die Präparate wurden 40 Stunden lang im Laboratorium sich selbst überlassen, dann die Fibrine herausgenommen, abgewaschen, in Gläschen mit je 25ccm Stärkelösung gelegt und diese in einen Thermostaten von 40° gebracht. In Zwischenräumen von je 15 Minuten wurden die Stärkelösungen auf Jod geprüft. Die Reaction, welche nach 1 $^1/_2$ Stunde in allen Gläschen beendet war, verlief in folgender Art: zuerst wurde die Stärkelösung mit dem Fibrin N° 1 umgesetzt; nicht lange nachher diejenige mit den Fibrinen N° 3 und 4; dann mit N° 2, und zuletzt mit N° 5. Die Fermentlösungen (je 1ccm zu 25 Stärkelösung), in welchen die Fibrine gelegen hatten, bewirkten die Umwandlung der Stärke in entgegengesetzter Reihenfolge, d. h. zuerst N° 6, dann N° 5, 2, 3, 4 und zuletzt N° 1.

Dieser Versuch veranschaulicht, dass das Fibrin sich gegen das Diastaseferment ganz ebenso wie gegen das Labferment verhält. Hier wie dort hat sich das rohe, frische Fibrin mit dem Ferment am stärksten beladen, dann das rohe in Alkohol aufbewahrte, darauf das frisch gekochte und zuletzt das gekochte, unter Alkohol aufbewahrte.

c. Emulsin.

Um die Absorptionsfähigkeit des Fibrins in Bezug auf Emulsin zu untersuchen, wurde folgendermassen verfahren:

Versuch 7.

Man bereitete eine wässerige Emulsinlösung und goss je 40ccm derselben in 6 Gläschen. Hierzu fügte man:

1) rohes Fibrin
2) gekochtes » } frisch.
3) rohes Fibrin, welches in Glycerin aufbewahrt wurde.
4) rohes Fibrin
5) gekochtes » } welches in Alkohol aufbewahrt wurde.
6) ein sechstes Gläschen wurde ohne Fibrin gelassen.

Nach Verlauf von 24 Stunden wurden die Fibrine herausgenommen, abgewaschen nnd in 5 Gläschen, welche je 25ccm einer Amygdalinlösung (in 1%iger Fluornatriumlösung) enthielten, in einen Thermostaten von 40° gebracht. Die Fermentreaction, welche sich durch deutlichen Geruch nach bitteren Mandeln kundgab, verlief in folgender Reihenfolge

bei N° 1, 4, 3 trat der Geruch nach 20 Minuten ein
bei N° 2 und 5 » » » » 45 » »

Dieselbe Manipulation führte man auch mit den entsprechenden 6 Fermentlösungen aus (5ccm zu 25ccm Amygdalinlösung). Die Reaction verlief hier in umgekehrter Reihenfolge, und zwar wie folgt: N° 6, 5, 2, 3, 4 und 1.

Die mit Emulsin erhaltenen Resultate stimmen also mit den mit Labferment und Diastase erhaltenen, überein.

d. Invertin.

Das Invertinferment wurde folgendermassen gewonnen: die von einer Bierbrauerei bezogene Bierhefe liess man mit etwas Wasser in einem flachen Gefässe 24 Stunden lang im Laboratorium stehen: dann wurde das überstehende Wasser abgegossen und mit Alkohol versetzt; zu der übriggebliebenen Bierhefe fügte man wieder etwas Wasser und führte nach weiteren 24 Stunden dieselbe Manipulation nochmals aus. Die beiden im Verlauf von 2 Tagen gewonnenen Hefeflüssigkeiten wurden filtriert und der auf dem Filter gesammelte Niederschlag in einem Trockenapparat ausgetrocknet, dann zerrieben und in 1%iger Fluornatriumlösung gelöst.

Versuch 8.

Von der so erhaltener Invertinlösung, welche sich auf Saccharose als wirksam erwiesen hatte, goss man je 50ccm in 5 Gläschen und fügte hinzu:

1) rohes Fibrin
2) gekochtes » } frisch.
3) rohes Fibrin
4) gekochtes » } nach Aufbewahrung in Alkohol.
5) Ein fünftes Gläschen enthielt nur die Fermentlösung.

Die Präparate wurden 24 Stunden im Laboratorium stehen gelassen, dann wurden die Fibrine herausgenommen, gewaschen und in Gläschen mit je 25ccm

Saccharoselösung gelegt. In bestimmten Zeiträumen wurden Proben der Saccharoselösungen mit ein Paar Tropfen Fehling'scher Lösung versetzt und auf Zuckerbildung geprüft. Es ergab sich, dass die Saccharose zuerst in N° 1 und 3, dann in N° 3 und 4 umgesetzt worden war. Die entsprechenden Invertinlösungen, von welchen je 1ccm zu 25ccm Saccharoselösung zugesetzt wurden, bewirkten die Umwandlung der letzteren in der Reihenfolge : 5, 4, 2, 3 und 1.

e. Maltase.

Versuch 9.

Frische Bierhefe wurde mit Wasser gemischt und diese Mischung auf 4 Portionen verteilt. Zu zweien wurde etwas Maltose zugesetzt, ferner zu je einem Teil rohes bezw. gekochtes Fibrin und dies 24 Stunden lang mazerieren gelassen. Man hatte also folgende 4 Portionen :

a)	Bierhefe	+	rohes	Fibrin	} ohne Maltose.
b)	»	+	gekochtes	»	
c)	»	+	rohes	»	} mit Maltose
d)	»	+	gekochtes	»	

Die Fibrine wurden nach dem Herausnehmen aus der Bierhefe gewaschen und ein Teil derselben auf Invertin geprüft, indem die Fibrine in Saccharoselösungen gelegt wurden. Sie bewirkten auch in der That deren Umwandlung, wobei rohes Fibrin sich als thätiger erwies, als das gekochte. Ein anderer Teil der Fibrine u. zw. von solchem der Portionen *a* und *c,* wurde gekocht, und gleiche Mengen von sämmtlichen Fibrinen

in fluorierten Maltoselösungen gelegt. So wurden folgende Präparate erhalten :

1) 50ccm Maltoselösung + Fibrin *a*
2) 50 » » + » *a* gekocht
3) 50 » » + » *b*
4) 50 » » + » *c*
5) 50 » » + » *c* gekocht
6) 50 » » + » *d*
7) Maltoselösung ohne Zusatz von Fibrin

Nach 24 Stunden wurde die Umwandlung der Maltose in Glycose mittelst der colorimetrischen Methode mit Fehling'scher Lösung untersucht. Zur vollständigen Entfärbung der Fehling'schen Lösung brauchte man folgende Mengen von jeder der Flüssigkeiten N° 1-7. (Die Zahlen sind hier im Mittel aus mehreren Versuchen angegeben) :

N° 1 — 7ccm.
N° 2 — 7,5 »
N° 3 — 5,8 »
N° 4 — 6,5 »
N° 5 — 7,4 »
N° 6 — 5,7 »
N° 7 — 7,5 »

Die Zahlen fielen zwar nicht sehr prägnant aus, doch deutlich genug, um daraus gewisse Schlüsse ziehen zu können. Zuerst erkennt man, dass die Maltoselösungen, in welchen dasjenige Fibrin lag, welches vorher aufgekocht war, fast in ihrer Wirkung mit der zu vergleichenden Lösung N° 7 übereinstimmten (N° 2 — 7,5, N° 5 — 7,4); dagegen verbrauchte man von den Maltoselösungen, in welchen das nicht aufgekochte Fibrin

gelegen hatte, zum Entfärben der Fehling'schen Lösung ein geringeres Quantum, und zwar am wenigsten bei rohem Fibrin (N° 3 — 5,8 und N° 6 — 5,7) ; die Maltoselösungen mit dem mit Ferment beladenen, gekochten Fibrin, zeigten eine geringere Abweichung von der normalen Lösung (7,0 bei N° 1 und 6,9 bei N° 4). Die Gegenwart der Maltose in der Bierhefe hatte anscheinend keinen, oder einen so geringen Einfluss, dass dieser sich nicht aus den erhaltenen Zahlen erkennen liess. (5,7 bei N° 6 verglichen mit 5,8 bei N° 3 und 6,9 bei N° 4 mit 7, 0 bei N° 1).

Die Thatsache jedoch, dass das Fibrin die Maltase absorbiert hat, kann nicht bestritten werden, und ihre Erkennung muss als das wichtigste Resultat der Untersuchungen angesehen werden.

f. Ptyalin.

Die Absorption des Ptyalinfermentes durch das Fibrin wurde bestätigt durch folgenden

Versuch 10.

Man nahm eine frische, rohe Fibrinflocke in den Mund und kaute sie während einer viertel Stunde ; dann wurde das Fibrin nach dem Abwaschen in eine Stärkelösung gebracht und in einen Thermostaten von 40° gestellt. Die Stärkelösung war nach Verlauf von 2 Stunden in Zucker umgewandelt.

Damit durften die Versuche, welche den Zweck, die erste Hauptfrage meines Themas zu beantworten hatten, als abgeschlossen angesehen werden. Sämtliche

Versuche ergaben ein positives Resultat, indem alle von mir geprüften löslichen Fermente vom Fibrin gierig absorbiert werden. Die verschiedenen Fibrinarten zeigen gegenüber allen diesen Fermenten ein gleiches Verhalten. Besonders auffallend ist der Unterschied in der Wirkung des rohen und des gekochten Fibrins.

Ich gehe jetzt zur Beschreibung der Versuche über, welche zur Beantwortung der zweiten Frage angestellt wurden:

2. Vermag das Fibrin die löslichen Fermente aus Lösungen von verschiedener Natur abzusondern?

Von besonderer Wichtigkeit schien mir die Frage, ob es gelingt aus Lösungen, welche störend auf die Thätigkeit des Fermentes einwirken, dasselbe mittelst des Fibrins abzusondern und es in diesem Zustande später unter günstigeren Bedingungen zur Wirkung kommen zu lassen. Am leichtesten konnte man sich davon mit Labferment überzeugen. Von den vielen Salzen, welche die Gerinnung der Milch verhindern, wählte ich Fluornatrium und Kaliumoxalat.

Versuch 11.

Ich löste das Labferment in Lösungen der obengenannten Salze auf, tauchte Fibrin in dieselben ein und liess es 40 Stunden lang einwirken. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Fibrin herausgenommen, ausgewaschen und in je 25ccm Milch gebracht. Die Coagulation der letzteren trat ein beim:

Fibrin aus der Lösung des Fermentes in 1%iger Fluornatriumlösung in 6 Minuten.
Fibrin aus der Lösung des Fermentes in 1%ger Kaliumoxalatlösung in 10 Minuten.

Daraus ist zu entnehmen, dass das Fibrin das Ferment aus den Lösungen, welche störend auf die Thätigkeit des letzteren einwirken, es in wirksamen Zustande abzusondern vermag.

Ich erwähne hier noch einen Versuch welcher veranschaulicht, dass das Fibrin das Ferment aus verschiedenartigen Lösungen ziemlich gleichmässig absorbiert. Dieser Versuch wurde mit Diastase aus Malz ausgeführt.

Versuch 12.

Je $^1/_4$ g Diastaseferment wurde gelöst in 100ccm folgender Flüssigkeiten:

1) Destilliertes Wasser
2) Chlornatriumlösung (1%ig)
3) Fluornatriumlösung (1%ig)
4) Glycerinlösung.

Den beiden ersten Lösungen war, um die Fäulniserreger fern zu halten, je 1ccm Chloroform zugesetzt. Die Lösungen wurden in 2 gleiche Portionen geteilt, von denen je eine mit gleichen Mengen von gekochtem Fibrin versetzt wurde. Nach 24 Stunden wurden die Fibrine aus den Lösungen herausgenommen, gewaschen, in je 25ccm Stärkelösung eingetragen und in einen Thermostaten von 40° gebracht. Die Reaction war nach 2 Stunden in allen Gläschen vollendet und verlief in folgender Ordnung: N° 1, 3, 2 und 4.

Ausserdem brachte man in 8 Gläschen, welche je 10ccm Stärkelösung enthielten, je 1ccm :

1) von der Fermentlösung	in Wasser	in denen kein Fibrin gelegen hatte,
2) » »	» Chlornatrium	
3) » »	» Fluornatrium	
4) » »	» Glycerin	
5) » »	» Wasser	in denen das Fibrin während 24 Stunden gelegen hatte.
6) » »	» Chlornatrium	
7) » »	» Fluornatrium	
8) » »	» Glycerin	

Die Reaction war nach einer Stunde in allen Gläschen vollendet und zwar in folgender Reihenfolge: N° 2, 1, 3, 6, 7, 4, 8, 5.

Obwohl man bemüht war, die Lösungen an Ferment gleichmässig herzustellen und denselben möglichst gleiche Mengen von Fibrin hinzuzufügen, ist es doch nicht ausgeschlossen, dass keine Differenzen in der Lösungsconcentration vorgekommen waren, so dass aus dem vorhergehenden Versuch nicht ganz sichere Schlüsse auf die Menge vom Fibrin aus den Lösungen absorbierten Fermentes gezogen werden können. Doch ist man innerhalb gewisser Grenzen immerhin zu dem Schluss berechtigt, dass das Fibrin das Ferment aus dessen wässeriger Lösung am stärksten, aus Lösung in Glycerin am schwächsten zu absorbieren vermag.

3. Besitzt auch das längere Zeit in Alkohol aufbewahrte Fibrin die Fähigkeit das Ferment zu absorbieren? Behält ferner das mit Fermenten beladene Fibrin dieselben in unverändertem Zustande bei, wenn es in Alkohol aufbewahrt wird?

Dass das in Alkohol aufbewahrte Fibrin die Fermente absorbiert, haben wir schon aus vielen vorher beschriebenen Versuchen ersehen können, indem bei denselben unter anderem auch das in Alkohol aufbewahrte Fibrin zur Verwendung gekommen war. Solches Fibrin war aber gewöhnlich nur kurze Zeit mit Alkohol in Contact gewesen. Es handelt sich nun hier darum zu wissen ob auch das längere Zeit in Alkohol aufbewahrte Fibrin die Fähigkeit, die Fermente zu absorbieren, noch besitzt. Zu diesem Zwecke war ein Teil von den zu den Versuchen bestimmten Fibrinen zurückbehalten und in Alkohol aufbewahrt worden.

Versuch 13.

Es gelangten zur Verwendung:

1) Rohes Schweinefibrin, welches während 50 Tagen in Alkohol aufbewahrt wurde.
2) Gekochtes » » » » » » »
3) Rohes Kuhfibrin » » 48 » » »
4) Gekochtes » » » » » » »
5) Rohes Schweinefibrin » » 44 » » »
6) Gekochtes » » » » » » »
7) Rohes Kalbsfibrin » » 40 » » »
8) Gekochtes » » » » » » »

Die Fibrine wurden gewaschen und in Labferment-

lösungen getaucht. Nach 24stündigem Verbleiben in den Fermentlösungen wurden die aus denselben herausgenommen, abgewaschen und in je 25ccm Milch gebracht. Das Gerinnen der letzteren erfolgte bei:

N° 1	in	16	Minuten
N° 2	»	21	»
M° 3	»	19	»
N° 4	»	16	»
N° 5	»	$14^1/_2$	»
N° 6	»	15	»
N° 7	»	14	»
N° 8	»	20	»

Die erhaltenen Zahlen unterscheiden sich von einander nicht so bedeutend, dass man daraus auf den Einfluss des längeren oder kürzeren Verbleibens des Fibrins in Alkohol einen Schluss ziehen könne; jedoch war schon das Ergebnis von Wichtigkeit, dass das Fibrin seine Absorptionsfähigkeit selbst nach dem längeren Verbleiben in Alkohol nicht verliert. Zum Vergleich füge ich hier noch Angaben über die Zeitdauer bei, innerhalb welcher die Milch durch die entsprechenden Fermentlösungen, in denen die Fibrine gelegen hatten, zum Coagulieren gebracht wurde: Bei

N° 1	erfolgte	die	Gerinnung	in	7	Minuten
N° 2	»	»	»	»	6	»
N° 3	»	»	»	»	14	»
N° 4	»	»	»	»	$6^1/_2$	»
N° 5	»	»	»	»	8	»
N° 6	»	»	»	»	6	»
N° 7	»	»	»	»	$12^1/_2$	»
N° 8	»	»	»	»	$5^1/_2$	»

Dass das rohe Fibrin die Fermente stärker absorbiert, als das gekochte, wird auch durch diesen Versuch bewiesen.

Der zweite Teil der zu lösenden Frage wird durch folgenden Versuch beantwortet.

Versuch 14.

Ein Teil der mit Labferment beladenen Fibrine vom Versuch 2 wurde in Alhohol während 44 Tagen aufbewahrt. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Fibrine aus dem Alkohol herausgenommen, abgewaschen und der Milch zugesetzt. Sie brachten letztere zur Coagulation:

	Serie A.		Serie B.		Serie C.	
N° 2	in 10	Minuten	in 13	Minuten	in 19	Minuten
N° 3	» 14½	»	» 19	»	» 38	»
N° 4	» 9	»	» 13½	»	» 18	»
N° 5	« 15½	»	» 18	»	» 25	»

Ich füge hier zum Vergleich die bei dem Versuch 2 erhaltenen Zahlen bei:

	Serie A.		Serie B.		Serie C.	
N° 2	8	Minuten	8	Minuten	9	Minuten
N° 3	9	»	18½	»	23	»
N° 4	9	»	9	»	17	»
N° 5	12½	»	17	»	20	»

Aus diesem Versuch ist ersichtlich, dass das mit Fermenten beladene Fibrin nach längerem Verbleiben in Alkohol seine Fermentwirkung behält. Dieses Fibrin hat die Milch in derselben Zeit, oder in unwesentlich längerer, als 44 Tage vorher zur Coagulation gebracht.

Die scheinbar schwächere Wirkung des Fibrins lässt sich aber anders als durch die Annahme einer partiellen Vernichtung der Fermente erklären, (was wir später nach Beantworten der fünften Frage ersehen werden).

4. Verliert das mit Fermenten beladene Fibrin seine Fermentwirkung gänzlich oder teilweise, nachdem es auf Substanzen mit seinen Fermenten gewirkt hat?

Um auf diese Frage eine Antwort zu geben, wurde folgendermassen verfahren:

Versuch 15.

Eine Flocke von rohem und eine von gekochtem Fibrin wurden mit Labferment beladen und nach dem Abwaschen in die Milch eingetragen; nachdem letztere coaguliert war, nahm man die Fibrine heraus, wusch sie ab und brachte sie in ein neues Quantum Milch; nachdem auch diese Milch geronnen war, trug man die Fibrine wiederum in frische Milch ein. Dieses Verfahren wurde im Ganzen 4mal ausgeführt und ergab folgende Resultate:

Die Coagulation der Milch erfolgte bei dem:

	nach dem 1ten Eintragen.	nach dem 2ten Eintr.	nach dem 3ten Eintr.	nach dem 4ten Eintr.
rohen Fibrin	in $8^1/_2$ Min.	in 9 Min.	in $12^1/_2$ Min.	in $16^1/_2$ Min.
gekochten »	» 18 »	» 22 »	» 23 »	» 27 »

Ein ganz ähnlicher Versuch ergab folgende Zahlen:

	1tes Eintr.	2tes Eintr.	3tes Eintr.	4tes Eintr.
	Coagulation der Milch in:			
rohes Fibrin	6 Minuten	7 Minuten	8 Minuten	$11^1/_2$ Minuten
gekochtes »	9 »	$10^1/_2$ »	$13^1/_2$ »	17 »

Aus diesen beiden Parallel-Versuchen ist deutlich zu ersehen, dass die Wirkung eines mit Fermenten beladenen Fibrins, nachdem es mit seinen Fermenten auf Substanzen gewirkt hat, nicht vollständig verloren geht, doch bei jedem neuen Eintragen diese Wirkung sehr deutlich abgeschwächt erscheint. Diese Thatsache würde auf den ersten Blick der Meinung widersprechen, dass man mit einem sehr kleinen Quantum Ferment bedeutend grössere Quantitäten von Substanz umwandeln kann, wenn nicht der Grund obiger Erscheinung in einer anderen Thatsache zu suchen wäre, nämlich darin, dass ein mit Fermenten beladenes Fibrin seine Fermente an die Flüssigkeiten, mit denen es in Contact gebracht wird, zum Teil abgiebt. Eine solche Flüssigkeit ist in vorstehendem Falle das Wasser, mit welchem das Fibrin jedesmal vor dem Zufügen zur Milch gewaschen war. Jedesmal gab das Fibrin ein gewisses Quantum von dem Ferment an sein Waschwasser ab, und die Wirkung des Fibrins war aus diesem Grunde nach jedem neuen Abwaschen geshwächt. Diese Thatsache verlangte eine besondere und gründliche Untersuchung, und ich habe diese Frage auch zum Gegenstande einer besonderen Abteilung gemacht die im Folgenden behandelt werden soll.

5. Giebt das mit Fermenten beladene Fibrin dieselben an die Flüssigkeiten, mit welchen es in Contact kommt, ab, und in welchem Masse?

Von den Flüssigkeiten, die hier in Frage kommen dürften, d. h. an die das Fibrin seine Fermente abgeben

könnte, wurden verschiedene ausgewählt und mit ihnen der Versuch folgendermassen angestellt:

Versuch 16.

Man belud gekochtes Fibrin mit Labferment und verteilte es nach genügendem Abwaschen in folgenden Elüssigkeiten:

1) destilliertes Wasser	50ccm
2) 1%ige Chlornatriumlösung	» »
3) 1%ige Chlorcalciumlösung	» »
4) Glycerin	» »

Nach Verlauf von 24 Stunden entnahm man jedem Präparat 10ccm und fügte dieselben zu je 25ccm Milch. Am schnellsten coagulierte diejenige Milch, welcher 10ccm von N° 3 zugesetzt worden waren, was leicht dadurch zu erklären ist, dass das Gerinnen der Milch durch Calciumchlorid begünstigt wird. Die Milchportionen, die mit 10ccm von N° 1 und 2 versetzt waren verhielten sich ungefähr gleich; dagegen coagulierte diejenige der Portion 4 überhaupt nicht. Diese Thatsache deutet an, dass das Fibrin das Ferment an das Glycerin nicht abgegeben hatte. Noch deutlicher ersieht man diese Thatsache an folgendem

Versuch 17.

Ungefähr die gleichen Quantitäten eines mit Labferment beladenen Fibrins wurden eingelegt in:

1) 50ccm destilliertes Wasser
2) 50ccm einer 1%igen Chlornatriumlösung
3) 40ccm dest. Wasser + 10ccm Glycerin
4) 25 » » » + 25 » »
5) 50ccm Glycerin.

Nach 24 Stunden entnahm man von jedem Präparat 10ccm und setzte diese zu je 25ccm Milch.

Das Coagulieren der Milch erfolgte bei:

N° 1 in 10 Minuten
N° 2 » 8 »
N° 3 » 12 »
N° 4 » 31 »
N° 5 keine Coagulation.

Derselbe Versuch wurde mit Diastaseferment ausgeführt.

Versuch 18.

Nachdem man mit Diastase beladenes, gekochtes Fibrin präpariert hatte, verteilte man ungefähr gleiche Mengen desselben in:

1) 50 ccm destilliertes Wasser
2) » » 1%ige Chlornatriumlösung
3) » » 1%ige Fluornatriumlösung
4) » » Stärkelösung
5) » » Glycerin

Zu jedem Präperat wurden noch zum Zweck des Fernhaltens von Fäulnisorganismen, je 1ccm Chloroform hinzugefügt. Die Präparate liess man in geschlossenen Gefässen im Laboratorium während 24 Stunden stehen. Dann entnahm man jedem Gefäss 10 ccm und mischte diese mit je 10ccm Stärkelösung. Diese Mischungen wurden in einen Thermostaten gebracht. Sämmtliche Stärkelösungen, mit Ausnahme von No 5 wurden nach 3 Stunden umgewandelt (in der Ordnung: 2, 1, 3, 4): Glycerin scheint also auch hier kein Ferment aufgenommen zu haben.

Ein dem Versuch 17 paralleler Versuch liefert einen noch weiteren Beweis.

Versuch 19.

Mit Diastaseferment beladenes, gekochtes Fibrin verteilte man gleichmässig in:

1) 50ccm dest. Wasser.
2) 40 » » » + 10 ccm Glycerin.
3) 25 » » » + 25 » »
4) 50 » Glycerin.

Nach 24 Stunden ergaben 10ccm von jeder Lösung, mit je 10ccm Stärkelösung gemischt und in einen Thermostaten gebracht, folgende Resultate: N° 4 blieb 4 Stunden im Thermostaten, ohne das sich eine Spur von Stärkeumwandlung zeigte. Die übrigen Stärkelösungen wurden in dieser Zeit umgewandelt in der Reihenfolge: N° 1, 2, 3.

Da diese Frage ziemlich wichtig erschien, wurden noch ganz ähnliche Versuche mit anderen Fermenten, und zwar mit Invertin und Emulsin ausgeführt.

Versuch 20.

Nach Bereitung eines mit Diastase, eines mit Invertin und eines mit Emulsin beladenen Fibrins, brachte man gleiche Mengen derselben getrennt in Gläschen, welche enthielten:

1) 50 ccm dest. Wasser.
2) 40 » » » + 10 ccm Glycerin.
3) 25 » » » + 25 » »
4) 50 » Glycerin.

So entstanden 3 Serien von Präparaten: *A* mit einem mit Diastase, *B* mit Invertin, *C* mit Emulsin beladenen Fibrin. Nach 24 stündigem Stehen in Laboratorium, wurden je 10ccm von jeder Serie und jedem Präparat in gleiche Mengen von Stärkelösung, resp. Saccharose und Amygdalin gebracht. Gleichzeitig wurden sämtliche Fibrine in die entsprechenden Substanzlösungen gebracht. Es stellte sich heraus, dass die Fibrine am meisten Ferment an reines Wasser, am wenigsten an reines Glycerin abgegeben haben, was sehr deutlich zu sehen war, indem die Fibrine der Serien *A*, *B* und *C* in der Reihenfolge 4, 3, 2 und 1 auf Stärke-, resp. Saccharose- und Amygdalinlösungen einwirkten, dagegen die von den 3 Serien entnommenen und zu der Stärke-, Saccharose- und Amygdalinlösung zugeführten Flüssigkeiten umgekehrt in der Reihenfolge: 1, 2, 3, 4 auf die Substanzen einwirkten.

Um endlich zu entscheiden, an welche von beiden Flüssigkeiten: an Wasser, oder an Chlornatriumlösung das Fibrin mehr Ferment abgiebt, führte man 2 parallele Versuche mit Lab- und mit Diastaseferment aus.

Versuch 21.

Eine mit Labferment und eine mit Diastase beladene, gekochte Fibrinflocke legte man getrennt in Gläschen, welche enthielten:

1) 50ccm destilliertes Wasser.
2) » » Chlornatriumlösung.

Nach 24 Stunden fügte man zu 2 Gläschen, welche je 25ccm Milch enthielten, je 10ccm von Lösungen der

N° 1 und 2, in welchen das mit Labferment beladene Fibrin gelegen hatte. Die Milch coagulierte:

mit N° 1 in 5 Minuten.
» N° 2 in 3 »

Als man statt 10ccm, nur 5ccm verwendete, coagulierte die Milch:

mit N° 1 in 7 Minuten.
» N° 2 in 5 »

Das mit Labferment beladene Fibrin brachte die Milch zum Gerinnen:

N° 1 in 19 Minuten.
N° 2 in 37 »

Andererseits fügte man in 2 Gläschen, welche je 20ccm Stärkelösung enthielten, je 10ccm der Flüssigkeiten 1 und 2, in welchen das mit Diastase beladene Fibrin gelegen hatte. Die Stärke war zuerst umgewandelt in Gläschen mit N° 2. Der entsprechende Versuch mit Fibrinen von 1 und 2 ergab, dass dasjenige von N° 1 sich als thätiger erwiesen hat.

Aus diesem Versuch darf man ganz sicher schliessen, dass das mit Fermenten beladene Fibrin dieselben leichter an Chlornatriumlösung als an Wasser abgiebt.

Ich komme nun zur Besprechung der letzten Frage:

6. Vermag ein und dieselbe Fibrinflocke mehrere Fermente auf einmal festzuhalten?

Hier können zwei Modificationen in Frage kommen: Das Fibrin kann in verschiedene Fermentlösungen und zwar in eine nach der anderen getaucht, oder in eine

Flüssigkeit gelegt werden, welche verschiedene Fermente nebeneinander enthält. Ich führte die Versuche in beiden Arten aus. Von den vielen angestellten Versuchen, führe ich hier nur einen typischen an, der auf die Frage genügend deutliche Antwort giebt.

Versuch 22.

Ich bereitete folgende Fermentlösungen in Fluornatriumlösung:

1) Labfermentlösung,
2) Diastaselösung,
3) Emulsinlösung,
4) Eine Mischung von Diastase- und Emulsinlösung,
5) Eine Mischung von Diastase-, Emulsin- und Labfermentlösungen.

In alle diese Fermentlösungen wurde gekochtes Fibrin eingelegt. Nach 24 Stunden wurde ein Teil der Fibrine aus den Lösungen N° 1, 2 und 3 herausgenommen, gewaschen und das Fibrin von N° 1 in Milch (im Wasserbad), dasjenige von N° 2 in Stärkelösung (im Thermostaten) und das von N° 3 in Amygdalinlösung (im Thermostaten) gebracht. Alle diese Fibrine erwiesen sich als wirksam.

Nachdem man sich davon überzeugt hatte, stellte man folgenden Versuch an: Fibrine von N° 1, 2 und 3 wurden herausgenommen, gewaschen und das Fibrin von N° 2 in die Emulsinlösung, N° 3 in Labfermentlösung und N° 1 in Diastaselösung gebracht. So liess man die Präparate bis zum nächsten Tag stehen.

Mit den übrigen Präparaten führte man folgende Versuche aus:

a. Ein gewisses Quantum von Fibrin N° 4 wurde nach dem Abwaschen in ein Gläschen gebracht, in welchem sich 10 ccm Stärkelösung und 10 ccm Amygdalinlösung befand. Nach 2 Stunden wurde die Lösung durch Jod nicht mehr blau gefärbt und die Lösung hatte einen deutlichen Bittermandelölgeruch.

b. Fibrin N° 5 wurde gewaschen und in 3 Portionen geteilt: ein Teil in 25 ccm Milch, ein zweiter in 25 ccm Stärkelösung, ein dritter in 25 ccm Amygdalinlösung gebracht und in einen Thermostaten von 40° gestellt. Die Milch coagulierte in 15 Minuten: Amygdalinlösung hatte den Bittermandelgeruch nach 1 $^1/_4$ Stunde: Stärkelösung färbte sich nicht mehr blau nach Verlauf von 2 $^1/_2$ Stunden.

Am nächsten Tage führte man mit den Fibrinen, welche ursprünglich in den Lösungen N° 1, 2 und 3 gelegen hatten und dann gewechselt worden waren, folgenden Versuch aus:

c. Man stellte folgende Präparate her:

1) 20ccm Stärkelösung + Fibrin, welches zuerst in Emulsin-, dann in Diastaselösung gelegen hatte.

2) 20ccm Stärkelösung + Fibrin, welches zuerst in Diastaselösung, dann in Emulsinlösung gelegen hatte.

3) 20ccm Amygdalinlösung + Fibrin, welches zuerst in Emulsin-, dann in Diastaselösung gelegen hatte.

4) 20ccm Amygdalinlösung + Fibrin, welches zuerst in Diastase-, dann in Emulsinlösung gelegen hatte.

5) 10ccm Stärkelösung + 10ccm Amygdalinlösung + Fibrin, welches zuerst in Emulsin-, dann in Diastaselösung gelegen hatte.

6) 10ccm Stärkelösung + 10ccm Amygdalinlösung + Fibrin, welches zuerst in Diastase-, dann in Emulsinlösung gelegen hatte.

7) 10ccm Stärkelösung + 10ccm Amygdalinlösung + Fibrin N° 4 (48 Stunden in der Fermentlösung gelassen)

Man verfolgte nun den Verlauf der Reaction durch sehr fleissige Beobachtungen. Die einzelnen Reactionen verliefen sehr ungleich, sicher aber wirkte das Fibrin mit demjenigen Ferment, welches zuletzt mit ihm in Berührung kam, dagegen nur sehr schwach mit dem Ferment, mit welchem es früher beladen war.

Aus den Beobachtungen während der Dauer von $3^1/_2$ Stunden wurde constatiert, dass die Reaction auf Stärke in folgender Ordnung verlief:

N° 3, 1, 7, 6 (bei 5 hatte die Reaction nur angefangen).

Die Reaction auf Amygdalin verlief in folgender Ordnung:

N° 4, 6, 7 (Reaction vollständig), N° 3 (Reaction angefangen), N° 2 (fast keine Reaction).

Aus den ganzen Versuchen war klar zu ersehen, dass das Fibrin auf einmal mehrere Fermente zu absorbieren vermag, am leichtesten, wenn es in eine Lösung getaucht wird, welche bereits mehrere Fermente enthält. Wenn das Fibrin in eine und dann in eine andere Fermentlösung gebracht wird, scheint das erste Ferment durch das frisch zugeführte wie verdeckt und seine Wirkung abgeschwächt zu sein.

Schlussfolgerungen.

Damit hatten die Versuche ihren Abschluss gefunden und die Beantwortung der gestellten Fragen erachte ich hiermit als erledigt.

Die erhaltenen Resultate und Antworten lassen sich kurz in folgenden Sätzen zusammenfassen :

1. Das Fibrin absorbiert in allen seinen Formen energisch die löslichen Fermente. Das rohe Fibrin absorbiert die Fermente merklich energischer, als das gekochte ; fast ebenso wirksam, wie das rohe frische Fibrin verhalten sich : das bei 100° ausgetrocknete, das in Glycerin aufbewahrte und das mit einer Säure aufgequollene Fibrin ; etwas schwächer wirkt das in Alkohol aufbewahrte rohe und noch schwächer ebenso behandeltes gekochtes Fibrin.

2. Das Fibrin absorbiert die Fermente aus verschiedenartigen Lösungen, selbst aus denjenigen, welche einen störenden Einfluss auf die Fermentwirkung ausüben.

3. Das mit Fermenten beladene Fibrin verliert, nach dem es in Alkohol gelegen hat, seine fermentierende Kraft nicht vollständig, wirkt aber auf die Substanzen schwächer als ursprünglich, was durch die Abgabe eines Teiles der Fermente an den Alkohol zu erklären ist.

4. Nach dem das mit Fermenten beladene Fibrin auf Substanzen gewirkt hat, scheint es in seiner fer-

mentierenden Kraft geschwächt zu sein, was sich in der gleichen Art, wie eben angegeben erklären lässt.

5. Das mit Fermenten beladene Fibrin giebt einen Teil derselben an die Flüssigkeiten, mit welchen es in Contact gebracht wird, ab, und zwar von den zur Verwendung gelangten Flüssigkeiten am stärksten Chlornatriumlösung, dann an Wasser, Fluornatriumlösung und andere — dagegen an Glycerin so gut wie gar nicht. Das Glycerin scheint also das ihm zugeschriebene Vermögen, die Fermente leicht zu lösen, nicht zu besitzen, wenigstens nicht in Bezug auf die von dem Fibrin festgehaltenen. Man benutzt gewöhnlich Glycerin, um Fermente zu lösen ; der Vorteil der Anwendung von Glycerin kann vielleicht daran liegen, dass es auf Proferment wirksam ist.

6. Das Fibrin vermag zu gleicher Zeit mehrere Fermente aus ihren Lösungen abzusondern und festzuhalten.

CURRICULUM VITÆ.

Der Verfasser vorliegender Arbeit, Stanislaw Szumowski wurde am 4. October 1873 zu Lublin (Russisch-Polen) als Sohn des verstorbenen Aleksander Szumowski und seiner verstorbener Ehefrau Wanda geb. Roszkowska, geboren. Er gehört der römisch-katholischen Confession an. Die erste Bildung erhielt er im klassischen Gymnasium zu Warschau, wo er vom Jahre 1883 bis zum Frühjahr 1889 verblieb. Von da an bis zum Ende des Jahres 1890 nahm er an einem dreisemestrigen Cursus der landwirtschaftlichen Schule zu Bautzen in Sachsen teil. Nachdem er dieselbe absolviert hatte, trat er in eine landwirtschaftliche Praxis auf einem Gute in Podolien ein, wo er bis zum Herbste 1892 verblieb.

Im November 1892 begab er sich nach Halle a. S. Daselbst widmete er sich während 7 Semester dem Studium der Naturwissenschaft und Landwirtschaft und schloss dasselbe mit einem landwirtschaftlichen Diplomexamen ab. Das Sommersemester 1896 verbrachte er an der Universität zu Leipzig und begab sich dann nach Freiburg in der Schweiz, wo er die Stellung eines Assistenten an dem physiologischen Institute der dortigen Universität übernahm, die er noch bisher bekleidet.

Die Monate November, Dezember 97 und Januar 98 weilte er in Paris, wo er im « Institut Pasteur » arbeitete.

Am 3. Mai 1898 bestand er in Freiburg die mündliche Doktorprüfung.

Während seiner Studienzeit hörte er die Vorlesungen und besuchte die praktische Uebungen bei den folgenden Herren Professoren :

In Halle: Kühn, Albert, Diehl, Dorn, Friedberg, v. Fritsch, Grenacher, Kirchhof, Kraus, Märcker, Pütz, Rümelin und Volhard.

In Leipzig: Kirchner und Strecker.

In Freiburg: Arthus, Kathariner und Westermaier.

Allen seinen Lehrern spricht er an dieser Stelle seinen verbindlichsten Dank aus.